

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-153946

(43)公開日 平成6年(1994)6月3日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 9/64		Z 9161-4B		
5/10				
15/57	Z N A			
		8931-4B	C 1 2 N 15/ 00	A
		9281-4B	5/ 00	B
審査請求 未請求 請求項の数 7 (全 10 頁) 最終頁に続く				

(21)出願番号	特願平4-312234	(71)出願人	000005968 三菱化成株式会社 東京都千代田区丸の内二丁目5番2号
(22)出願日	平成4年(1992)11月20日	(72)発明者	下村 猛 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三 菱化成株式会社総合研究所内
		(72)発明者	森本 裕紀 神奈川県横浜市緑区鴨志田町1000番地 三 菱化成株式会社総合研究所内
		(72)発明者	喜多村 直実 大阪府守口市八雲東町2-82-21-910
		(72)発明者	宮澤 恵二 兵庫県芦屋市高浜町3-1-524
		(74)代理人	弁理士 長谷川 曉司

(54)【発明の名称】 新規なタンパク質およびそれをコードする遺伝子

(57)【要約】

【構成】 1本鎖の肝実質細胞増殖因子(HGF)を活性型の2本鎖HGFに変換させる活性を持ったヒト血清由来のプロテアーゼの前駆体をコードする遺伝子の塩基配列を決定した。

【効果】 上記遺伝子を導入した形質転換体を培養して得られる培養液から該タンパク質を容易に、大量かつ安定して得られる。

【 0 0 0 .4 】

【課題を解決するための手段】本発明者らの一部は、該プロテアーゼを前駆体としてヒト血しょうから精製し、この前駆体はSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動による分子量が約96,000ダルトンのタンパク質であることを見出した(特願平4-208034号)が、本発明者らは、当該タンパク質と同等の活性を有するタンパク質を容易に調製することを目的として鋭意検討を重ねた結果、かかる前駆体タンパク質をコードする遺伝子を初めて取得し、その結果遺伝子工学的手法を用いて該タンパク質を大量生産できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【０００５】すなわち本発明の要旨は、配列表の配列番号１に記載のアミノ酸配列で表されることを特徴とするタンパク質、それをコードする遺伝子、該遺伝子がコードするポリペプチドを発現するベクター、形質転換体およびこれらを用いた当該タンパク質の産生法に存する。以下、本発明につき詳細に説明する。

【0006】本発明における新規タンパク質は、配列表の配列番号1に示すアミノ酸配列を有するタンパク質であり、それがプロセッシングを受けた後に1本鎖型HGFを2本鎖型HGFに変換するという成熟型のプロテアーゼ活性を有するようになる範囲であれば、一部のアミノ酸を除去、置換、修飾または追加する等の改変を行ったものも本発明に含まれる。

【0007】上記タンパク質をコードする遺伝子としては、例えば配列表の配列番号2に記載の塩基配列で表される核酸配列を部分配列として含有してなるものや、配列表の配列番号3に記載の塩基配列で表されるもの等が挙げられる。かかる遺伝子のDNA断片は、例えば以下のようにして得ることが出来る。本発明のタンパク質をコードするcDNAライブラリーとしては、市販のヒト肝臓から調整されたものが利用出来る。このcDNAライブラリーから、ブローニミドを齋藤らの方法（ブローニミド、グロブ、オブ、サ、ナ、ナ、ル、ア、ウ、ミ、ー、サイ、コ、ス、ロー、コス、ロー [Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 8664-8668 (1986)]）により感染させ、培養する。培養後に形成されたコロニーを、部分DNA断片あるいは本発明のタンパク質の部分アミノ酸配列に対応する塩基配列を有するDNA断片をプローブとしてコロニーハイブリダイゼーション法（ミヤギ、ロー、グロブ、ナ、グ）、ロー、ド

[illegible]

分DNA断片が用いられる。具体的には、配列表の配列番号4に記載のDNA断片を+鎖DNAプライマー、配列表の配列番号5に記載のDNA断片を-鎖DNAプライマーとしてPCRを行い、得られた配列表の配列番号2に記載のDNA断片を作成してプローブとして用いる。また本発明タンパク質のアミノ酸配列より推定されるDNA配列に基づき合成したオリゴヌクレオチドをプローブとして用いることもできる。

【0009】さらに上記のスクリーニング陽性のコロニーから、T. Maniatisらの方法（「モレキュラー・クローニング」、コールド・スプリング・ハーバー・ラボラトリー、85（1982））によりDNAを調製し、適当な制限酵素、例えばBamHI等で切断後、pUC18等のプラスミドにクローニングし、Sangerらのジデオキシ法（ブローディングス・オブ・ナショナル・アカデミーサイエンス・ユー・エス・エー「Proc. Natl. Acad. Sci. USA」, 74, 5463（1977））によって目的とするDNA断片の塩基配列を決定することができる。

【0010】このようにして決定されるDNA断片の塩基配列（例えば、配列表の配列番号2に記載の塩基配列を部分配列として含むもの、配列表の配列番号3に記載の塩基配列で表されるもの）は、配列表の配列番号1に示す本発明タンパク質をコードしている。また本発明のかかるDNA断片としては、それがプロセッシングを受けた後に1本鎖型HGFを2本鎖型HGFに変換するプロテアーゼ活性を有するようになる範囲であれば、一部の塩基を除去、置換、修飾または追加する等の改変を行ったものも含まれる。

【0011】上記のようにして得られるDNA断片は、その5'末端を修飾して常法に従って発現ベクターのプロモーターの下流に挿入され、大腸菌、枯草菌、酵母、動物細胞宿主等の細胞内に導入される。次に本発明タンパク質の産生方法につき詳細に説明する。発現ベクターとしては、上記のようにして得られた本発明タンパク質をコードするDNAを転写できる位置にプロモーターを含有しているものが好適に使用される。例えば大腸菌、枯草菌等の微生物を宿主とするときには、発現ベクターはプロモーター、リボソーム結合(SD)配列、当該タンパク質遺伝子、転写終結配列およびプロモーターを制御する遺伝子よりなることが好ましい。

もしも

【0013】リボソーム結合配列としては、大腸菌、ファージ等由来のものでもよいが、16SリボソームRNAの3'末端領域の相補的な配列を4塩基以上連続して有するコンセンサス配列を持つ合成DNA配列でもよい。転写終結配列は必ずしも必要ではないが、非依存性のもの、例えばリボプロテインターミネーター、trpオペロンターミネーター等を有している方が好ましい。

【0014】さらにこれらの発現に必要な因子の発現プラスミド上での配列順序としては、5'上流側からプロモーター、SD配列、当該タンパク質遺伝子、転写終結因子の順に並ぶことが望ましい。また、発現ベクター上のSD配列と当該タンパク質遺伝子とのユニットを複数個同方向に挿入することにより、ベクター上の転写単位のコピー数を増加させる方法（特開平1-95798号公報）を用いることもできる。

【0015】発現ベクターとして使用できるものとしては、pUAI2（特開平1-95798号公報）、市販のpKK233-2（ファルマシア社製）等が挙げられる。また、融合蛋白として発現させる発現ベクターpGEXシリーズ（ファルマシア社製）等も同様に使用することができる。宿主細胞の形質転換法としては、常法に従うことができる。

【0016】形質転換体の培養は、モルフィータローニング（コールド・スプリングハーバー・ラボラトリー、1982年）に記載の方法に準じて行うことができる。上記したように、宿主細胞としては大腸菌、枯草菌、酵母等の微生物を使用することかできるか、本発明タンパク質が多くのシステイン残基を含み、そのシステイン残基間のチオール結合の位置およびタンパク質の高次構造が活性の維持に影響を与える可能性があることを考慮すると、動物細胞、例えばCHO細胞、COS細胞、マウスL細胞、マウスC127細胞、マウスFM3A細胞等を用いて当該タンパク質遺伝子を発現させることが望ましい。

【0017】動物細胞のプロモーターとしては種々のものが報告されているが、例えばSV40プロモーター、メタロチオネイン遺伝子のプロモーター等を用いることができる。このプロモーターの下流に分泌シグナルおよび当該タンパク質遺伝子のDNA断片とを転写方向に従って挿入する。この場合、当該遺伝子のDNA断片を2-3bp結合したものを挿入してよい。また当該遺伝

【例 18】上記当該タリハタ遺骸の骨は、その上流に「リサ」の化石部位が存在することが見出し、例及同様に「リサ」の化石部位は、遺骸の「リサ」の化石部位に存在する。

[illegible][illegible]

質遺伝子にプロモーターを結合したDNA断片を2〜3個タンデムに挿入する方法を用いた場合には、当該タンパク質遺伝子それぞれの3'側にそれぞれポリアデニル化部位を存在させることが可能である。さらにSV40遺伝子、ウサギβ-グロブリン等の動物由来の遺伝子、化学的に合成されたエクソン、イントロンのスプライシングシグナル配列等を当該タンパク質遺伝子の上流または下流に挿入することも高発現のために有効な手段である。

【0019】上記の発現ベクターを用いて動物細胞、例えばCHO細胞を形質転換する際には、選択マーカーを用いることが望ましい。選択マーカー遺伝子を該発現ベクターのポリアデニル化部位下流に順方向あるいは逆方向に挿入しておく、形質転換体を得る際に、選択マーカー遺伝子を含む別のプラスミドを二重形質転換する必要がなくなる。このような選択マーカーとしては、メトトレキセート耐性を与えるDHFR遺伝子（ジャーナル オブ モレキュラー バイオロジー [J. Mol. Biol.]、159、601（1982））、抗生物質G-418耐性を与えるNeo遺伝子（ジャーナル オブ モレキュラー バイオロジー ジェネティクス [J. Mol. Appl. Genet.]、1、327（1982））、ミコフェノール酸耐性を与える大腸菌由来のEco gpI遺伝子（ブローディングス オブ ナショナル アカデミー サイエンス ユー エス エー [Proc. Natl. Acad. Sci. USA]、78、2072（1981））、抗生物質ハイグロマイシン耐性を与えるhph遺伝子（モレキュラー アンド セルラー バイオロジー [Mol. Cell. Biol.]、5、410（1985））等が挙げられる。

【0020】これらの各耐性遺伝子の5'上流側にはプロモーター、例えば前述のSV40由来のプロモーターが挿入されており、また各耐性遺伝子の3'下流側には、前述のポリアデニル化部位が含まれている。Invitrogen社から市販されている発現ベクターpCDNA/Neoは、選択マーカーとしてネオマイシンの耐性遺伝子を最初から有しており、このようなベクターを用いてもよい。発現ベクターに上記のような選択マーカー遺伝子が挿入されていない場合には、形質転換体の選択マーカーを有するベクター、例えばpSV2Neo（ジャーナル オブ モレキュラー バイオロジー ジェネティクス [J. Mol. Appl. Genet.]、1、327（1982））を用いることができる。

【0021】本発明の形質転換方法は、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、78、2072（1981）に記載の方法に従って実施することができる。

【0022】本発明の形質転換方法は、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、78、2072（1981）に記載の方法に従って実施することができる。

質遺伝子の発現ベクターと共に二重形質転換し、選択マーカー遺伝子の表現形質により形質転換体を容易に選択できる。

【0021】以上のような方法で、選択される当該タンパク質遺伝子を含む細胞について選択マーカーを変更して二重形質転換を繰り返すことは、発現量を上昇させることができるので好ましい。発現ベクターの動物細胞への導入は、リン酸カルシウム法（ビロロシー [Virology]、52、456（1973））、エレクトロポレーション法（ジャーナル オブ メンブレン バイオロジー [J. Membr. Biol.]、10、279（1972））等が挙げられる。

【0022】形質転換された動物細胞の培養は、常法により浮遊培養または付着培養で行うことができる。培地としては、MEM、RPMI 1640等を用い、5〜10%の血清存在下もしくは適当な成長因子の存在下、または無血清下にて培養する。当該タンパク質を産生している動物細胞は、その培養上清中に産生された当該タンパク質を分泌することから、この組換え体の培養上清から当該タンパク質の分離精製を行うことが可能である。具体的には、生産された当該タンパク質を含む培養上清を各種クロマトグラフィー、例えば陰イオン交換樹脂、ヘパリン固定化樹脂、疎水クロマト用樹脂、アフィニティークロマト用樹脂等を適宜組み合わせたクロマトグラフィーにて精製することにより、当該タンパク質を単離精製することができる。

#### 【0023】

【実施例】以下に実施例を挙げて本発明をより具体的に説明するが、その要旨を越えない限り以下に限定されるものではない。

実施例1 本発明タンパク質の精製および部分アミノ酸配列の決定

特願平4-208034号の実施例2に記載の方法に従って、ヒト血しょうより、セリンプロテアーゼで処理することにより1本鎖型HGFを2本鎖型HGFに変換するプロテアーゼ活性を有し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動にて約96、000ダルトンの分子量を示すタンパク質を得た。この精製されたタンパク質を、緩衝液A（6M塩酸グアニジン、0.002Mエチレンジアミン4酢酸塩および1Mトリス塩酸バッファー（pH8.5））中で、2-メルカプトエタノールにより、40℃で2時間還元した後、等濃度のモノクローナル抗体を

【0024】本発明の形質転換方法は、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、78、2072（1981）に記載の方法に従って実施することができる。

【0025】本発明の形質転換方法は、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、78、2072（1981）に記載の方法に従って実施することができる。



5、100mM塩化ナトリウム、10mM硫酸マグネシウムおよび0.01%ゼラチン)と20 $\mu$ lのクロロホルムによりファージを抽出した。上記の200 $\mu$ lファージ抽出液と200 $\mu$ lX L1-Blueおよび1 $\mu$ lのR408ヘルパーファージを37℃、15分間処理した後、2 $\times$ YT培地5mlを加えて37℃で3時間振とう培養を行った。続いて70℃で20分間処理した後4000gで5分間遠心分離し、上清を得た。上清の100倍希釈液20 $\mu$ lをX L1-Blue 200 $\mu$ lと混ぜ、37℃で15分間処理した後、その内2 $\mu$ lをア

【0028】

【発明の効果】本発明により、1本鎖HGFを活性型の

配列

Met	Gly	Arg	Trp	Ala	Trp	Val	Pro	Ser	Pro	Trp	Pro	Pro	Pro	Gly	Leu
1				5					10					15	
Gly	Pro	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Leu	Pro	Arg	Gly
			20						25					30	
Phe	Gln	Pro	Gln	Pro	Gly	Gly	Asn	Arg	Thr	Glu	Ser	Pro	Glu	Pro	Asn
			35					40					45		
Ala	Thr	Ala	Thr	Pro	Ala	Ile	Pro	Thr	Ile	Leu	Val	Thr	Ser	Val	Thr
			50				55					60			
Ser	Glu	Thr	Pro	Ala	Thr	Ser	Ala	Pro	Glu	Ala	Glu	Gly	Pro	Gln	Ser
			65			70				75				80	
Gly	Gly	Leu	Pro	Pro	Pro	Pro	Arg	Ala	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Ser	Pro
			85						90					95	
Gln	Ala	Gln	Ala	Leu	Thr	Glu	Asp	Gly	Arg	Pro	Cys	Arg	Phe	Pro	Phe
			100						105					110	
Arg	Tyr	Gly	Gly	Arg	Met	Leu	His	Ala	Cys	Thr	Ser	Glu	Gly	Ser	Ala
			115				120						125		
His	Arg	Lys	Trp	Cys	Ala	Thr	Thr	His	Asn	Tyr	Asp	Arg	Asp	Arg	Ala
			130				135					140			
Trp	Gly	Tyr	Cys	Val	Glu	Ala	Thr	Pro	Pro	Pro	Gly	Gly	Pro	Ala	Ala
			145				150				155			160	
Leu	Asp	Pro	Cys	Ala	Ser	Gly	Pro	Cys	Leu	Asn	Gly	Gly	Ser	Cys	Ser
			165						170					175	
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
Gln	Tyr	Leu	Glu	Gly	Gly	Asp	Arg	Trp	Ala	Arg	Val	Arg	Gln	Gly	His
			210				215						220		
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...

2本鎖HGFに変換するプロテアーゼ活性を有するポリペプチドの前駆体タンパク質をコードする新規なDNA断片が得られ、その塩基配列が明らかにされた。その当該タンパク質遺伝子を挿入された発現ベクターを宿主細胞に導入することにより、当該タンパク質を大量、安定、かつ容易に生産することが可能になり、当該タンパク質から成熟型のプロテアーゼが生産できると考えられる。

【0029】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：655

配列の型：アミノ酸

鎖の数：2本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

起源

生物名：ヒト

245	250	255
His Leu Ile Val Ala Thr Gly Thr Thr Val Cys Ala Cys Pro Pro Gly		
260	265	270
Phe Ala Gly Arg Leu Cys Asn Ile Glu Pro Asp Glu Arg Cys Phe Leu		
275	280	285
Gly Asn Gly Thr Gly Tyr Arg Gly Val Ala Ser Thr Ser Ala Ser Gly		
290	295	300
Leu Ser Cys Leu Ala Trp Asn Ser Asp Leu Leu Tyr Gln Glu Leu His		
305	310	315
Val Asp Ser Val Gly Ala Ala Ala Leu Leu Gly Leu Gly Pro His Ala		
325	330	335
Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Asn Asp Glu Arg Pro Trp Cys Tyr Val Val		
340	345	350
Lys Asp Ser Ala Leu Ser Trp Glu Tyr Cys Arg Leu Glu Ala Cys Glu		
355	360	365
Ser Leu Thr Arg Val Gln Leu Ser Pro Asp Leu Leu Ala Thr Leu Pro		
370	375	380
Glu Pro Ala Ser Pro Gly Arg Gln Ala Cys Gly Arg Arg His Lys Lys		
385	390	395
Arg Thr Phe Leu Arg Pro Arg Ile Ile Gly Gly Ser Ser Ser Leu Pro		
405	410	415
Gly Ser His Pro Trp Leu Ala Ala Ile Tyr Ile Gly Asp Ser Phe Cys		
420	425	430
Ala Gly Ser Leu Val His Thr Cys Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys		
435	440	445
Phe Ser His Ser Pro Pro Arg Asp Ser Val Ser Val Val Leu Gly Gln		
450	455	460
His Phe Phe Asn Arg Thr Thr Asp Val Thr Gln Thr Phe Gly Ile Glu		
465	470	475
Lys Tyr Ile Pro Tyr Thr Leu Tyr Ser Val Phe Asn Pro Ser Asp His		
485	490	495
Asp Leu Val Leu Ile Arg Leu Lys Lys Lys Gly Asp Arg Cys Ala Thr		
500	505	510
Arg Ser Gln Phe Val Gln Pro Ile Cys Leu Pro Glu Pro Gly Ser Thr		
515	520	525
Phe Pro Ala Gly His Lys Cys Gln Ile Ala Gly Trp Gly His Leu Asp		
530	535	540
Glu Asn Val Ser Gly Tyr Ser Ser Ser Leu Arg Glu Ala Leu Val Pro		
545	550	555
Leu Val Ala Asp His Lys Cys Ser Ser Pro Glu Val Tyr Gly Ala Asp		
565	570	575
Val Cys Pro Asn Met Leu Cys Ala Gly Tyr Phe Asp Cys Lys Ser Asp		
580	585	590
Val Ala Tyr Leu Tyr Gly Ile Ile Ser Trp Gly Asp Gly Cys Gly Arg		
610	615	620
Val Ile Tyr Val Tyr Val Tyr Thr Arg Val Ala Asn Tyr Val Asp Trp		
625	630	635
Val Asn Asp Arg Cys Arg Leu Thr Thr Arg Ala Leu Cys Tyr Thr		

11

12

645

650

655

【0030】配列番号：2

配列の長さ：329

配列の型：核酸

鎖の数：2本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

直接の起源：Quick-clone™ ヒト肝臓cDNA (Clontech社製)

配列

```

GGATCC CAG ATT GCG GGC TGG GGC CAC TTG GAT GAG AAC GTG AGC GGC      48
      Gln Ile Ala Gly Trp Gly His Leu Asp Glu Asn Val Ser Gly
          1             5             10
TAC TCC AGC TCC CTG CGG GAG GCC CTG GTC CCC CTG GTC GCC GAC CAC      96
Tyr Ser Ser Ser Leu Arg Glu Ala Leu Val Pro Leu Val Ala Asp His
      15             20             25             30
AAG TGC AGC AGC CCT GAG GTC TAC GGC GCC GAC ATC AGC CCC AAC ATG     144
Lys Cys Ser Ser Pro Glu Val Tyr Gly Ala Asp Ile Ser Pro Asn Met
          35             40             45
CTC TGT GCC GGC TAC TTC GAC TGC AAG TCC GAC GCC TGC CAG GGG GAC     192
Leu Cys Ala Gly Tyr Phe Asp Cys Lys Ser Asp Ala Cys Gln Gly Asp
          50             55             60
TCA GGG GGG CCC CTG GCC TGC GAG AAG AAC GGC GTG GCT TAC CTC TAC     240
Ser Gly Gly Pro Leu Ala Cys Glu Lys Asn Gly Val Ala Tyr Leu Tyr
          65             70             75
GGC ATC ATC AGC TGG GGT GAC GGC TGC GGG CGG CTC CAC AAG CCG GGG     288
Gly Ile Ile Ser Trp Gly Asp Gly Cys Gly Arg Leu His Lys Pro Gly
          80             85             90
GTC TAC ACC CGC GTG GCC AAC TAT GTG GAC TGG AT GGATCC                 329
Val Tyr Thr Arg Val Ala Asn Tyr Val Asp Trp
          95             100            105

```

【0031】配列番号：3

配列の長さ：2033

配列の型：核酸

鎖の数：2本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

起源

生物名：ヒト

直接の起源：Pre-made Lambda phage Library、ヒト肝臓(49才、男) cDNA Library (Stratagene社製)

配列

```

ATGGGGCGCT GGGCTGGGT CCCAGCCCC TGGCCCCAC CGGGGCTGGG CCCCTTCCTC      60
CTCTCTCTCC TGCTGTGCT GCTGCTGCCA CGGGGGTTC AGCCCCAGCC TGGCGGGAAC     120
CGTACGGAGT CCCAGAACCC TAATGCCACA GCGACCCCTG CGATCCCCAC TATCCTGGTG     180
ACCTCTGTGA CCTCTGAGAC CCCAGCAACA AGTGCTCCAG AGGCAGAGGG ACCCCAAAGT     240
GGGGGGCTCC CGCCCCGCC CAGGGCAGTT CCCTCGAGCA GTAGCCCCCA GGCCCAAGCA     300
CTCACCAGAG ACGGGAGGCC CTCAGGTTT CCCTCCGCT ACGGGGGCCG CATGCTGCAT     360
GCTTGCACTT CGGAGGGCAG TGCACACAGG AAGTGGTGT CCACAACCA CAACTACGAC     420
CGGGACAGGG CTTGGGGCTA CTGTGTGGAG GCCACCCGC CTCCAGGGGG CCCAGCTGCC     480
CGGGACAGGG CTTGGGGCTA CTGTGTGGAG GCCACCCGC CTCCAGGGGG CCCAGCTGCC     540

```

```

CGACATACAG CTGCTGAG CAGCCCTTGC CTGAACGGGG GCACCTGCCA CTGATCGTG      780
GCCACCGGGA CCACCGTGTG TGCCCTGCCA CCAGGCTTGC CTGGACGGCT CTGCAACATC     840

```



13

14

GTGGACTCCG TGGGCGCCGC GGCCCTGCTG GGCCTGGGCC CCCATGCCTA CTGCCGGAAT 1020  
 CCGGACAAATG ACGAGAGGCC CTGGTGCTAC GTGGTGAAGG ACAGCGCGCT CTCCTGGGAG 1080  
 TACTGCCGCC TGGAGGCCCTG CGAATCCCTC ACCAGAGTCC AACTGTCACC GGATCTCCTG 1140  
 GCGACCTTGC CTGAGCCAGC CTCCCCGGGG CGCCAGGCCCT GCGGCAGGAG GCACAAGAAG 1200  
 AGGACGTTC TCGGCCACG TATCATCGGC GGCTCCTCCT CGCTGCCCGG CTCGCACCCC 1260  
 TGGCTGGCCG CCATCTACAT CGGGGACAGC TICTGCGCCG GGAGCCTGGT CCACACCTGC 1320  
 TGGGTGGTGT CGGCCGCCCA CTGCTTCTCC CACAGCCCCC CCAGGGACAG CGTCTCCGTG 1380  
 GTGCTGGGCC AGCACTTCTT CAACCGCACG ACGGACGTGA CGCAGACCTT CGGCATCGAG 1440  
 AAGTACATCC CGTACACCCT GTACTCGGTG TTCAACCCCA GCGACCACGA CCTCGTCCTG 1500  
 ATCCGGCTGA AGAAGAAAGG GGACCGCTGT GCCACACGCT CGCAGTTCGT GCAGCCCATC 1560  
 TGCTTGCCCG AGCCCGGCAG CACCTTCCCC GCAGGACACA AGTGCCAGAT TCGGGGCTGG 1620  
 GGCCACTTGG ATGAGAACGT GAGCGGCTAC TCCAGCTCCC TCGGGGAGGC CCTGGTCCCC 1680  
 CTGGTCGCCG ACCACAAGTG CAGCAGCCCT GAGGTCTACG GCGCCGACAT CAGCCCCAAC 1740  
 ATGCTCTGTG CCGGCTACTT CGACTGCAAG TCCGACGCCT GCCAGGGGGA CTCAGGGGGG 1800  
 CCCTTGCCCT GCGAGAAGAA CGGCGTGGCT TACCTCTACG GCATCATCAG CTGGGGTGAC 1860  
 GGCTGCGGGC GGCTCCACAA GCCGGGGGTC TACACCCGCG TGGCCAACIA TGTTGACTGG 1920  
 ATCAACGACC GGATACGGCC TCCAGGCGG CTTGTGGCTC CCTCCTGACC CTCAGCGGG 1980  
 ACACCCCTGGT TCCCACCATT CCCTGCCCTG CTGACAATAA AGATATTTC AAG 2033

【0032】配列番号：4

配列の長さ：26

配列の型：核酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

起源

生物名：ヒト

配列

CTCGGATCCC ARATNGCNGG NTGGGG

26

R : G or A, N : A, G, C or T

【0033】配列番号：5

配列の長さ：26

配列の型：核酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：他の核酸（合成DNA）

起源

生物名：ヒト

配列

CTCGGATCCA TCCARTCNAC RTARTT

26

R : G or A, N : A, G, C or T

【0034】配列番号：6

配列の長さ：7

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

フラグメント型：中間フラグメント

起源

生物名：ヒト

配列の長さ：8

10 配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

フラグメント型：中間フラグメント

起源

生物名：ヒト

配列

Val Ala Asn Tyr Val Asp Trp Ile

1

5

配列

Cys Gln Ile Ala Gly Trp Gly

フロントページの続き

(51) Int. Cl.<sup>5</sup>

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

// (C 1 2 N 5/10

C 1 2 R 1:91)